



UITVINDINGSOCTROOI

PUBLICATIENUMMER : 1005825A4
 INDIENINGSNUMMER : 09200478
 Internat. klassif. : C07H B01F C11D
 Datum van verlening : 08 Februari 1994

De Minister van Economische Zaken,

Gelet op de wet van 28 Maart 1984 op de uitvindingsoctrooien inzonderheid artikel 22;

Gelet op het Koninklijk Besluit van 2 December 1986, betreffende het aanvragen, verlenen en in stand houden van uitvindingsoctrooien, inzonderheid artikel 28;

Gelet op het proces-verbaal opgesteld door de Dienst voor Industriële Eigendom op 22 Mei 1992 te 14u00

BESLUIT :

ARTIKEL 1.- Er wordt toegekend aan : PILJAC Goran; PILJAC Visnja Centar za biomedicinska istrazivanja, 41000 ZAGREB, SALATA 2, CROATIA (JOEGOSLAVIE); Centar za biomedicinska istrazivanja, 41000 ZAGREB, SALATA 2, CROATIA (JOEGOSLAVIE)

vertegenwoordigd door : PRINS Hendrik, OCTROOIBUREAU ARNOLD & SIEDSMA B.V.B.A., Hamoirlaan, 21a - B 1180 BRUSSEL.

een uitvindingsoctrooi voor de duur van 20 jaar, onder voorbehoud van de betaling van de jaartaksen voor : OPPERVLAKTEACTIEVE SAMENSTELLING OP BASIS VAN RHAMNOLOPIDE.

ARTIKEL 2.- Dit octrooi is toegekend zonder voorafgaand onderzoek van zijn octrooieerbaarheid, zonder waarborg voor zijn waarde of van de juistheid van de beschrijving der uitvinding en op eigen risico van de aanvrager(s).

Brussel 08 Februari 1994
 BIJ SPECIALE MACHTING :

Wij zijn
getuige

Oppervlakteactieve samenstelling op basis van rhamnolipide

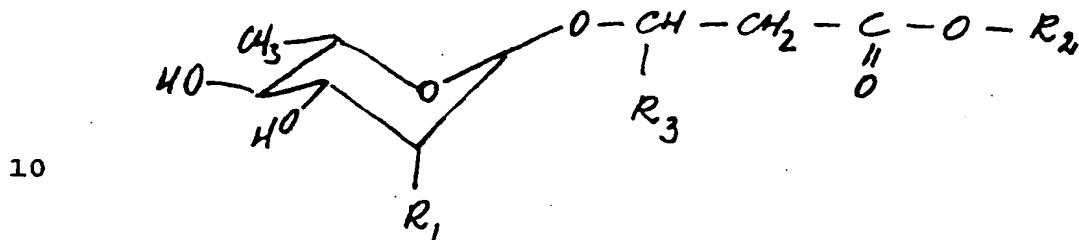
De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een oppervlakteactieve samenstelling bevattende als oppervlakteactieve stof tenminste één rhamnolipide. In het bijzonder heeft de onderhavige uitvinding betrekking 5 op een dergelijke op een rhamnolipide gebaseerde samenstelling voor het gebruik bij het winnen en behandelen van metalen; papierproduktie; bereiding van verf en coating; olieproduktie en -raffinage; het reinigen, verven, bedrukken en eindbewerken van textiel; 10 de fabricage van bouw- en constructiemateriaal; plastics; levensmiddelen en dranken; en in leerbehandeling.

Door de verschillende combinaties van koolhydraten en lipiden, tezamen met structureel verschillende bindingen en verschillende ionische toestanden, bestaan 15 er een groot aantal glycolipiden met een onderling sterk verschillende hydrofiele-lipofiele balans. Het is bekend dat verschillende stammen van *Pseudomonas*, zoals *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas oleovorans*, in staat zijn 20 om rhamnolipiden extracellulair uit te scheiden, wanneer zij worden gekweekt op oplosbare, alsook op onoplosbare koolstofoppervlakken.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op oppervlakteactieve samenstellingen die deze rhamnolipiden 25 bevatten. Op basis van een uitgebreid onderzoek is gevonden dat deze op rhamnolipiden gebaseerde samenstellingen een uitstekende oppervlakteactieve werking vertonen in polaire en apolaire media. Deze uitstekende oppervlakte-werking is in hoge mate 30 temperatuur onafhankelijk, dat wil zeggen dat deze samenstellingen volgens de onderhavige uitvinding in wezen warmtestabiel zijn. Bovendien zijn de gebruikte

rhamnolipiden natuurlijke verbindingen en biologisch afbreekbaar. Het gebruik ervan zal niet een onomkeerbare milieuvervuiling tot gevolg hebben.

5 Bij voorkeur is het rhamnolipide een rhamnolipide met de algemene formule



Zeer werkzame rhamnolipiden worden verkregen indien het rhamnolipide een di-rhamnolipide is.

15 Indien de substituent R_2 waterstof is, bevat het rhamnolipide slechts één lipidegroep. Indien de substituent R_2 wordt gevormd door $CH - CH_2 - COOH$,

R_4

20 bevat het rhamnolipide-molecuul twee lipide-eenheden die onderling verbonden zijn door een esterbinding.

De substituenten R_3 en R_4 kunnen worden gekozen uit rechte of vertakte (C_5-C_{20})-verzadigde, -mono- of poly-onverzadigde alkylgroepen. Voorkeur gaat uit naar onvertakte, verzadigde alkylgroepen met de algemene formule $(CH_2)_x-CH_3$, waarin $x = 4-20$. Meer voorkeur gaat uit naar alkylgroepen waarin $x = 4$ of 6 .

30 Een zeer werkzaam farmaceutisch preparaat wordt verkregen indien dit bevat het rhamnolipide (alfa-L-rhamnopyranosyl-(1,2) alfa-L-rhamnopyranosyl)-3-hydroxydecanooyl-3-hydroxydecaanzuur.

Aan de hand van een niet-limitatief voorbeeld zullen hierna van een rhamnolipide de isolatie en het gebruik in oppervlakteactieve samenstellingen volgens de uitvinding worden beschreven. Hierbij is van de volgende 35 methoden gebruik gemaakt.

1. Isolatie en karakterisering

Uit boorvloeistof van een olieput werden bacteriestammen geïsoleerd die rhamnolipiden kunnen synthetiseren op zowel een vloeibare koolstofbron (glucose) als op een onoplosbare koolstofbron (glycerol, gasolie). Deze geïsoleerde bacteriestammen zijn gekarakteriseerd als Pseudomonasstammen (BBL Minitek, Numerical Determination and Identification System, Becton, Dickinson and Company.)

2. Concentratie en zuivering

De door extracellulaire secretie in het medium aanwezige rhamnolipiden werden op verschillende wijzen geconcentreerd en gezuiverd.

a) zuur precipitatie

De pH van de supernatant werd met behulp van zoutzuur gebracht op een pH 1,5-2,0, waarna werd ingedampt tot 1/10 van het oorspronkelijke volume en het concentraat liet men over de nacht bij 4°C staan. De afgecentrifugeerde pellet (0,5-2,0 g/l) werd gecentrifugeerd bij 17.300 x g gedurende 30 minuten bij 4°C en vervolgens geëxtraheerd met CH_2Cl_2 , gefiltreerd, drooggedampt, opnieuw gesuspendeerd in water en vervolgens opnieuw geprecipiteerd.

b) schuimfractionering

Samengeperste lucht werd gebracht tot in de supernatant en gevormd schuim werd opgenomen in een afzonderlijke houder, of gebracht in aangezuurd water (pH 1,5-2,0).

c) chromatografie

Supernatant werd gebracht op een preparatieve kolom (Amberlit XAD-8 of XAD-2 hars, Rohm & Haas). De kolom was geëquilibreerd met water en werd na absorptie doorspoeld

met water. De actieve componenten werden geëlueerd met een lagere alkylalcohol, zoals ethanol of methanol. Het gebruikte oplosmiddel werd afgedampt onder vacuüm en het concentraat werd aangezuurd en geprecipiteerd zoals hiervoor is beschreven.

3. Chemische detectie en karakterisering.

VOORBEELD

25 Pseudomonas aeruginosa werd aeroob gekweekt bij een temperatuur van 32°C. De volgende kweekmedia bleken zeer geschikt voor de rhamnolipide-produktie.

30 a) 5 g glucose, 5 g pepton, 2 g gistextract, 5 g NaCl, 0,5 g KH_2PO_4 , 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3 g KNO_3 , 1 ml Gottlib oplossing en 1 liter water.

b) 20 g glucose, 10 g gistextract, 20 g CaCO₃ en 1 liter water.

Glucose kan worden vervangen door glycerol, waardoor een twee-fasensysteem ontstaat. Glycerol als koolstofbron levert een betere opbrengst in vergelijking tot glucose, maar een meer gecompliceerd proces is vereist. De verandering van de oppervlaktespanning van het kweekmedium naar 28-31 mN/m werd gemeten met behulp

van een White's ring tensiometer. Deze verlaging van de oppervlaktespanning is een goede maat voor de opbrengst aan het einde van de fermentatie. De rhamnolipideconcentratie werd spectrofotometrisch gemeten 5 met antron-reagens. Nadat de biomassa was afgescheiden door centrifugeren, werd de supernatant gechromatografeerd op silica gel 60 F 254 platen en op Kemika platen.

Glycolipiden konden worden aangetoond door gebruik 10 te maken van de navolgende reagentia, voor lipiden alpha-naphtol, voor glycolipiden diphenylamine, en voor koolhydraten en oligosacchariden beta-naphtol-timol en anthron. Gebruikmaking van deze reagentia leverde op, dat de verbindingen van het glycolipide-type zijn. Met 15 alphacyclodextrine, reagens en kleurstof voor vetzuren, kon worden aangetoond dat het lipofiele/hydrofobe deel van het molecuul bestaat uit vетzuurketens met een even aantal koolstofatomen. Negatieve resultaten werden verkregen met reagentia voor onverzadigde lipiden. Met 20 behulp van alkali $KMnO_4$ en ammoniacaal $AgNO_3$ kon de aanwezigheid van glycosidische bindingen worden aangetoond. Door alkalische hydrolyse werden esterbindingen tussen aanwezige vетzuren gesplitst, en door zure hydrolyse werd de O-glycosidische binding 25 tussen de suikergroep en de OH-groep van het lipide-deel van het molecuul gesplitst.

10 volumina van de supernatant die de rhamnolipiden bevat, werden geleid over een amberlit XAD-8 of XAD-2 kolom (Rohm & Haas). De kolom werd gewassen met water. De 30 rhamnolipiden werden geëluweerd met 100% MeOH. De fracties die de rhamnolipiden bevatten werden drooggedampt en daarna opgenomen in dezelfde hoeveelheid zuiver water. 1 N HCl werd toegevoegd om de rhamnolipiden neer te slaan. De neergeslagen rhamnolipiden werden gecentrifugeerd bij 35 3.000 toeren per minuut gedurende 10 minuten. De neergeslagen rhamnolipiden werden opnieuw gewassen met zuiver water en vervolgens gecentrifugeerd bij 3.000 toeren per minuut gedurende 10 minuten. Met behulp van

1/10 N NaOH werd de pH van de neergeslagen lipiden ingesteld op 7,2. Na vriesdrogen werd 10 g van het gevriesdroogde preparaat opgelost in 50 ml propanol en gebracht op een silica-kolom (Waters HPLC, volume 500 ml) die was geëquilibreerd met hexaan. Met behulp van 5 liter propanol werden verontreinigingen geëluerd. De rhamnolipiden werden geëluerd onder gebruikmaking van het oplosmiddelmengsel propanol-25% NH₄OH (4:1). De actieve fracties werden drooggedampt en opgelost in water, neergeslagen met 1 N HCL, gecentrifugeerd bij 3.000 toeren per minuut, en de neerslagen werden met behulp van 0,1 N NaOH ingesteld op pH 7,2 en gevriesdroogd.

15 De verkregen, zuivere rhamnolipiden werden gebruikt voor het bereiden van de bio-oppervlakteactieve samenstellingen volgens de uitvinding. Deze samenstellingen kunnen bestaan uit polaire en apolare oplossingen, dispersies, emulsies, suspensies en mengsels daarvan.

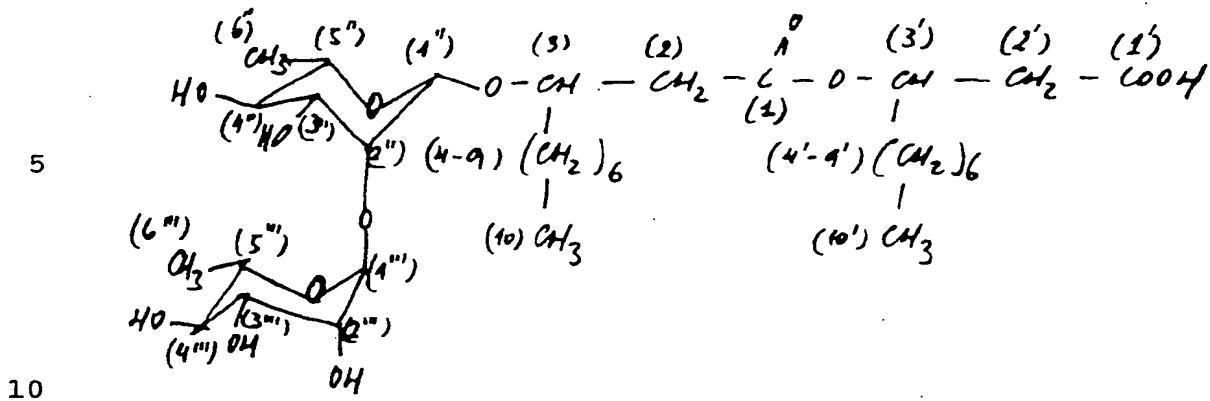
20 Afhankelijk van de uiteindelijke toepassing
bevatten de bio-oppervlakteactieve samenstellingen vanaf
0,05 tot 10 gew.% actief rhamnolipide. Bij voorkeur
echter is de rhamnolipide-concentratie vanaf 0,1 tot 2,0
gew.%, meer bij voorkeur vanaf 0,1 tot 1,0 gew.%. De
25 ondergrens wordt bepaald door de activiteit van het
aanwezige rhamnolipide en de bovengrens voornamelijk door
kostenoverwegingen.

Formuleringsvoorbeeld

30 Waterige oplossingen werden bereid met 0,00001 tot 1,0 gew.% rhamnolipide. Het rhamnolipide was (alfa-L-rhamnopyranosyl-(1,2) alfa-L-rhamnopyranosyl)-3-hydroxydecanooyl-3-hydroxydecaanzuur, en was geïdentificeerd met
35 i) ^1H - en ^{13}C -NMR gegevens; en
ii) massaspectrofotometriegegevens.

09200473

7

¹³C-NMR (75 MHz; DMSO-d6)

	C	ppm	C	ppm	C	ppm
15	1''	97,7	1	173,3	1'	170,6
	2''	77,3	2	40,8	2'	40,2
	3''	70,4 ^a	3	72,2 ^a	3'	71,4 ^a
	4''	73,2	4	33,7	4'	32,5
	5''	68,9	5	24,8	5'	24,1
20	6''	17,9	6	28,8-29,2	6'	28,8-29,2
	1'''	102,2	7		7'	
	2'''	70,4 ^a	8	31,4	8'	31,4
	3'''	70,8 ^a	9	22,2	9'	22,2
	4'''	72,4	10	14,0	10'	14,0
25	5'''	68,8				
	6'''	17,8				

^a: toerekeningen kunnen omgekeerd zijn

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d6)**suiker-deel**

	H	ppm	
5	1" ; 1'"	4,8; 4,9	singlet (24)
	2" ; 2'"		3,20 --> 4,10 multiplet (8H)
	5" ; 5'"		
10	6" ; 6'"	1,21	doublet, J=5,9 Hz (6H)

lipide-deel

	H	ppm	
15	2,2'	2,43, 2,53	2x doublet, J=6,0 Hz (4H)
	3,3'	3,20 - 4,1	multiplet (2H)
		5,24	
	4,4'	1,6	multiplet (4H)
	5,5' -> 9,9'	1,3	multiplet (16H)
20	10,10'	0,97	triplet, J=6,3 Hz (6H)

massaspectrum

	m/z : 673 [M + H + Na] ⁺
	m/z : 695 [M + H + 2Na] ⁺
25	m/z : 525 [M - C ₁₀ H ₁₈ O ₂ + 2Na] ⁺ minus terminaal lipide
	m/z : 379 [m - C ₁₀ H ₁₈ O ₂ - rhamnose + 2Na] ⁺ minus terminaal lipide en rhamnose

30 Bij het winnen van metalen kunnen deze samenstellingen op basis van rhamnolipide worden gebruikt voor het concentreren van erts. In de bewerking en behandeling van metaal kunnen deze samenstellingen worden gebruikt voor het snijden en vormen, gieten, verwijderen van roest en aanslag, en bij het plateren.

35 In de papierproduktie kunnen deze samenstellingen overeenkomstig de uitvinding worden gebruikt voor behandeling van pulp, in papiermachines voor het ontschuimen, bij het instellen van het kleurniveau en de

dispersie, en tijdens het kalanderen.

In verf- en coatingbereiding kunnen de rhamnolipiden worden gebruikt bij de bereiding van pigmenten en in latex-verven en verder in wassen.

5 Bij de produktie en raffinage van olie kunnen deze oppervlakteactieve stoffen worden gebruikt in boorvloeistoffen, tijdens het overlopen van producerende bronnen, gedurende de olieproduktie door deëmulsificatie van de ruwe olie, bij het herwinnen van secundaire olie
10 en tenslotte in gerede produkten.

Met betrekking tot textiel kunnen deze rhamnolipiden worden gebruikt bij de fabricage van vezels, in verf- en drukprocessen en verder bij de eindbewerking van textiel.

15 In de landbouw kunnen deze bio-oppervlakteactieve rhamnolipiden worden gebruikt in kunstmeststoffen, zoals fosfaat-kunstmest, en in sproeitoepassingen voor biociden, zoals pesticiden en herbiciden.

20 In bouw- en constructiematerialen kunnen deze rhamnolipiden worden gebruikt voor plaveisels, zoals bij de verbetering van de bindende kracht van asfalt aan gravel en zand, en in beton.

Voor plastics kunnen deze bio-oppervlakteactieve stoffen worden gebruikt in emulsiepolymerisatie, in
25 schuimplastic, in plastic voorwerpen als anti-statische stoffen en in plastic-coating en laminaat.

30 Voor voedingsmiddelen en dranken kunnen deze oppervlakteactieve stoffen worden gebruikt bij de voedselbereiding, voor fruit en groenten, zoals bijvoorbeeld wascoatings, in gebak en ijs, bij de kristallisatie van suiker door het wassen te verbeteren, en bij het koken van vetten en oliën.

Voor reiniging kunnen deze rhamnolipiden worden gebruikt in detergentia en sanitaire samenstellingen.

35 Tenslotte kunnen de rhamnolipiden worden gebruikt in de leerbehandeling voor het behandelen van huid, voor het looien, voor de behandeling van vellen en voor het drogen van leer.

Proefvoorbeeld 1

De overeenkomstig het voorbeeld bereide rhamnolipiden werden opgelost in een concentratie 500 mg/10 liter water en gebruikt in een wasmachine voor het wassen van kleding met vetvlekken. Gedurende het wassen werd geen excessieve schuimvorming waargenomen, en de vetvlekken werden verwijderd.

10

Proefvoorbeeld 2

Een waterige oplossing van het rhamnolipide volgens het voorbeeld van 1:10.000 werd gebracht (5 ml) op een preparatieve HPLC kolom voor de verwijdering van organische materialen. Na elueren was het door standaardprocedures niet te verwijderen organische materiaal verdwenen.

Proefvoorbeeld 3

Een met olie verontreinigd oppervlak werd gesproeid met een 0,5% kleine w/v oplossing van het rhamnolipide volgens de uitvinding. De geëmulsificeerde olie werd van het oppervlak gespoeld met water.

25

Proefvoorbeeld 4

Om te onderzoeken of de bio-oppervlakteactieve stoffen volgens de uitvinding in staat zijn met olie verontreinigd zand, rotssteen en water zoals zeewater te reinigen werd de oppervlaktespanning van 0,01 en 0,05 gewichtsprocentige oppervlakteactieve oplossingen van synthetisch pekel (15 g natriumchloride per m² + 200 pbm CH₂+) gemeten.

Bovendien werd de interfaciale spanning gemeten van deze bio-oppervlakteactieve oplossingen tegen kerosine D2 olie, een commercieel verkrijgbaar koolwaterstof mengsel. Bovendien werden deze metingen ook uitgevoerd na de bio-oppervlakteactieve oplossingen aan een warmtebehandeling bij 120°C te hebben onderworpen.

Een 0,01 gewichtsprocent oplossing in pekel reduceert de interfaciale spanning tegen kerosine (D2 olie) van 33,5 mN/m tot een waarde van 0,22 mN/m. De warmtebehandeling had geen effect op de verkregen 5 resultaten.

Rhamnolipide oppervlakteactieve stoffen zijn in staat de interfaciale spanning van het systeem pekel/olie te reduceren van 33,5 mN/m tot 0,5-0,2 mN/m (8,5 tot reductie). Bij de lage concentratie van 0,01 10 gewichtsprocent/vol in pekel wordt de oppervlaktespanning teruggebracht van aanvankelijk 71,0 mN/m tot 28-30 mN/m (ongeveer 60%).

Proefvoorbeeld 5

15 De resultaten van de laboratoriumproef voor verbeterde olieherwinning tonen de efficiency aan van de rhamnolipide-oplossing in de secundaire fase van het terugwinnen van olie, bij de zogeheten gemodificeerde waterstroom, die een verplaatsing van de oliebron omvat.

20 Additionele olie die werd teruggevonden in relatie tot de waterstroom is 10-26% van de oorspronkelijke middelen, of 25-54% van de residu-verzadiging met opname van 2-3 P.V. (porievolume) van de rhamnolipide oplossing (0,01 mg/ml).

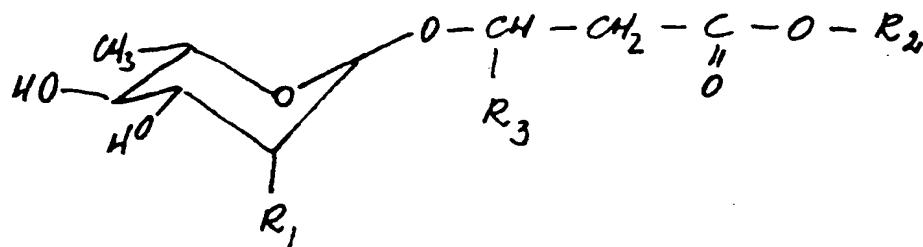
25 Aan de verplaatsingscondities is voldaan, zoals getoond in de diagrammen 1 en 2, door

- regulering van de mobiliteit van de geïnjecteerde oplossing tot 0,1 m/dag; en
- een tijdelijke afsluiting van de produktie zodat het 30 "stromen" van de bron kan worden gerealiseerd. In praktische situaties betekent dit een 6 maal langer durende produktiecyclus in vergelijking met de waterstroom zelf.

CONCLUSIES

1. Oppervlakteactieve samenstelling bevattende als oppervlakteactieve stof tenminste één rhamnolipide.

2. Samenstelling volgens conclusie 1, bevattende een rhamnolipide met de algemene formule:



waarin $R_1 = H$, alfa-L-rhamnopyranosyl;

$R_2 = H, -CH - CH_2 - COOH;$

R_4

15 $R_3 = (C_5-C_{20})$ -verzadigd, -mono- of poly-onverzadigd alkyl;

$R_4 = (C_5-C_{20})$ -verzadigd, -mono- of poly-onverzadigd alkyl;

20 3. Samenstelling volgens conclusie 2, waarin $R_3 = -(CH_2)_x - CH_3$, en $x = 4-20$.

25 4. Samenstelling volgens conclusie 3, waarin $x = 4$ of 6.

5. Samenstelling volgens conclusie 2-4, waarin $R_4 = -(CH_2)_x - CH_3$, en $x = 5-20$.

30 6. Samenstelling volgens conclusie 5, waarin $x = 4$ of 6.

7. Samenstelling volgens conclusie 2-6, waarin $R_1 = \text{alfa-L-rhamnopyranosyl}$.

8. Samenstelling volgens conclusie 2-7, waarin x =
6.

9. Samenstelling volgens conclusie 2-8, waarin
5 $R_2 = - CH - CH_2 - COOH;$
$$(CH_2)_y$$

$$CH_3$$

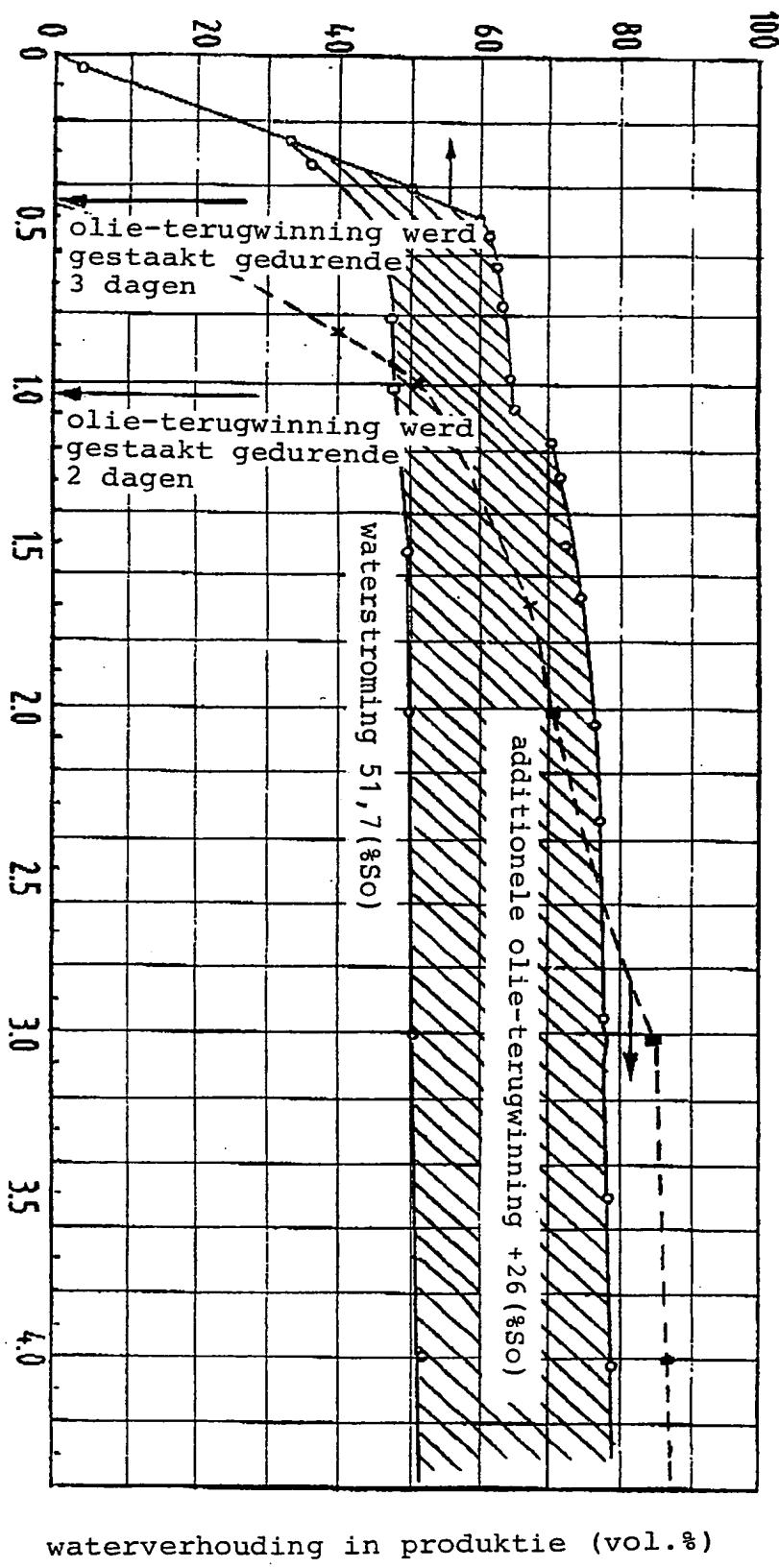
en y = 4-20.

10 10. Samenstelling volgens conclusie 9, waarin y = 4
of 6.

11. Samenstelling volgens conclusie 1-10, waarin
het rhamnolipide is (alfa-L-rhamnopyranosyl-(1,2) alfa-L-
15 rhamnopyranosyl)-3-hydroxydecanooyl-3-hydroxydecaanzuur.

09200478

14



09200478

15

teruggewonnen olie

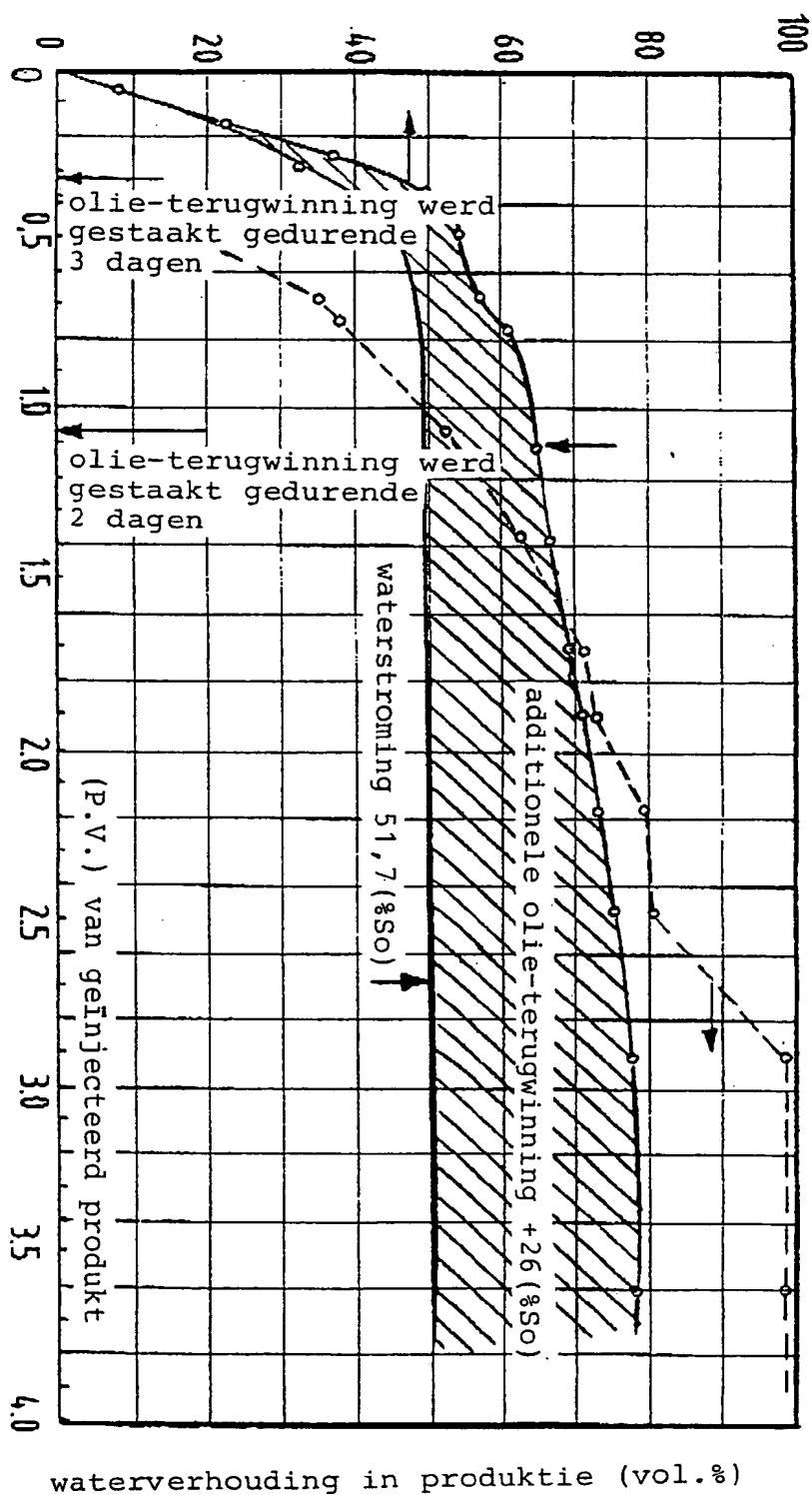


Diagram 2: laboratoriumsimulatie van het terugwinnen van olie
 oliebron karakteristieken $K = 8,8 \text{ m}^2$, $\phi = 13,8\%$
 secundair proces injecteren van produkt in oplossing

SAMENWERKINGSVERDRAG INZAKE OCTROOIEN

Verslag betreffende het onderzoek van het internationale type
opgesteld krachtens artikel 21 § 9 van de Belgische wet op de
uitvindingsoctrooien van 28 maart 1984

IDENTIFIKATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE		KENMERK VAN DE AANVRAGER OF GEMACHTIGDE P HP/sm/Pj-2BE
Belgische nationale aanvraag nr. 9200478		Datum van indiening 22 mei 1992
		Ingeroepen voorrangsdatum
Aanvrager (Naam) PILJAC, GORAN		
Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type 11 augustus 1992	Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr. SN 20424 BE	
I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven)		
Volgens de internationale octrooiclassificatie (C18) of terzelfdertijd volgens de nationale classificatie en de C18		
Int.Cl. ⁵	C 07 H 15/04, B 01 F 17/00, C 11 D 1/06, E 21 B 43/25	
II. ONDERZOCHE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK		
Onderzochte minimum documentatie		
Classificatiesysteem	Classificatiesymbolen	
Int.Cl. ⁵	C 07 H, B 01 F, C 11 D, E 21 B	
Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen		
III. <input type="checkbox"/> MEN IS VAN OORDEEL DAT BEPAALDE CONCLUSIES NIET HET ONDERWERP KONDEN UITMAKEN VAN EEN ONDERZOEK (Opmerkingen op aanvullingsblad)		
IV. <input type="checkbox"/> GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING EN/OF VASTSTELLING BETREFFENDE DE OMVANG VAN HET ONDERZOEK (Opmerkingen op aanvullingsblad)		

V. VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR

° Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of tekeningen.	Van belang voor conclusie(s) Nr.
X	EP,A,0 153 634 (WINTERSHALL AG) 4 September 1985 zie bladzijde 7, regel 5 - regel 10 zie bladzijde 9, regel 25 - bladzijde 10, regel 6 zie bladzijde 12, regel 31 - bladzijde 13, regel 10; conclusie 9 ---	1-11
X	EP,A,0 310 005 (WINTERSHALL AG) 5 April 1989 zie conclusies 1-3,6 ---	1-11
X	EP,A,0 135 099 (PETROTEC SYSTEMS AG) 27 Maart 1985 zie bladzijde 13, regel 6 - bladzijde 14, regel 16; conclusie 1 ---	1
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 090 (C-0691) 20 Februari 1990 & JP,A,13 04 034 (AGENCY OF IND. SCIENCE AND TECHNOL) 7 December 1989 zie samenvatting -----	1

° Categorie van de vermelde literatuur

A : achtergrond van de stand van de techniek

T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding

E : eerdere octrooiaanvraag

X : op zichzelf van bijzonder belang

L : om andere redenen vermelde literatuur

Y : van bijzonder belang in samenhang met andere literatuur

O : verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek

& : lid van dezelfde octrooifamilie

P : literatuur gepubliceerd tussen voorrangs en indieningsdatum

VI. VERKLARING

Datum waarop het onderzoek van internationaal type werd voltooid 19 JANUARI 1993	Verzenddatum van het rapport van het onderzoek van internationaal type
EUROPEES OCTROOIBUREAU	Ondertekening door de bevoegde ambtenaar BRENNAN J.

AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAL TYPE,
UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR.

BE 9200478
SN 20424

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenoemde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooraad
gegarandeerd, de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

19/01/93

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)		Datum van publicatie
EP-A-0153634	04-09-85	DE-A-	3405664	05-09-85
		CA-A-	1247030	20-12-88
		JP-A-	60188092	25-09-85
		US-A-	4814272	21-03-89
EP-A-0310005	05-04-89	DE-A-	3733341	13-04-89
		US-A-	5128262	07-07-92
EP-A-0135099	27-03-85	CA-A-	1223534	30-06-87
		US-A-	4628030	09-12-86